



Sertifikat

Diberikan kepada

Dr. Eti Yerizel, MS

Atas partisipasinya sebagai: ~~Pembicara/Moderator~~/Presenter oral/Peserta/~~Panitia~~

Seminar Ilmiah dan Sarasehan
Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia
“Peran Biokimia dan Biologi Molekuler pada Era Post Millenium
Development Goals”

yang diadakan oleh:

Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
Sabtu, 7 Maret 2015

Dekan Fakultas Kedokteran UGM

Yogyakarta, 7 Maret 2015
Ketua Panitia


Prof. Dr. dr. Teguh Aryandono, Sp.B(K)Onk.
NIP. 195112181979031002


dr. Ahmad Hamim Sadewa, Ph.D
NIP. 197006231997021001

PROSIDING SEMINAR ILMIAH

Perhimpunan Biokimia & Biologi Molekuler Indonesia

“Peran Biokimia dan Biologi Molekuler
pada Era *Post Millenium Development Goals*”

Sabtu, 7 Maret 2015
FAKULTAS KEDOKTERAN UGM



BAGIAN BIOKIMIA FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

ISBN: 978-602-70556-1-2



9 786027 055612

**PROSIDING
SEMINAR ILMIAH
PERHIMPUNAN BIOKIMIA & BIOLOGI MOLEKULER INDONESIA
"Peran Biokimia dan Biologi Molekuler pada Era *Post Millenium*
Development Goals"**

REVIEWER:

Prof. Ir. Triwibowo Yuwono, Ph.D
Prof. Dr. drh. Wayan Tunas Artama
dr. Ahmad Hamim Sadewa, Ph.D
Dr. Sunarti, M.Kes
Dr. Pramudji Hastuti, Apt., M.Kes
Dra. Prasetyastuti, Apt., M.Kes
dr. Arta Farmawati, Ph.D

Ukuran Buku: 15 x 21 cm
Tebal buku: 175 + v
ISBN: 978-602-70556-1-2

Penerbit:

Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada

Alamat Penerbit:

Gd. Radiopoetro Lt 6, Sekip Utara Yogyakarta 55281
Telp. 0274 6492446 Fax. 0274-561196,
E-mail: bb.fk@ugm.ac.id

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
ISI	
1. PEMETAAN PENYAKIT ZONOTIK MENGGUNAKAN SISTEM INFORMASI GEOGRAFIS (SIG) DENGAN PENDEKATAN ONE HEALTH Wayan T. Artama, Annisa Retmanasari, Barandi S.Widartono, Mahardika A. Wijayanti1, Sujono	1-10
2. KLONING GEN wingless-type MMTV integration site family member 4 (Wnt4) MENCIT SWISS WEBSTER UNTUK PENYEDIAAN ANTIGEN BARU DALAM IMUNOKONTRASEPSI. Agung J. Sitasiwi, Wayan T. Artama, Agung Budiyanto, Edi DharmanaPENENTUAN PATOTIPE	11-23
3. STUDI PATOTIPING VIRUS NEWCASTLE DISEASEDARI AYAM BROILER DENGAN METODE RT-PCR DAN REA Silvana Derivatif Kristoferin dan Aris Haryanto	24-29
4. PERAN ENZIM p38 Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) TERHADAP PENINGKATAN KADAR ANGIOTENSINOGEN PADA KULTUR ADIPOSIT YANG TERPAJAN GLUKOSA Novi Khila Firani, M Rasjad Indra	30-36
5. DASAR MOLEKULER DAN MANIFESTASI KLINIS PASIEN AKONDROPLASIA DI INDONESIA Dewi Megawati, Nanis S. Marzuki, Ita M. Nainggolan, Maria Swastika, Sintia Puspitasari, Iswari Setianingsih	37-42
6. KLONING GEN PENYANDI Ag85A Mycobacterium tuberculosis Firdayanti, Ni Made Mertaniasih, Ning Rintiswati, Wayan T. Artama	43-50
7. PENGARUH HIPERGLIKEMIA TERHADAP HIGH SENSITIVE C REACTIVE PROTEIN (Hs-CRP) PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2 Eti Yerizel, Putra Hendra, Zulkarnain Edward, Hafni Bachtiar	51-55
8. REAKTIVITAS PANEL ANTIBODI MONOKLONAL TERHADAP VIRUS FLU BURUNG SUBTIPE H5N1 YANG BERSIRKULASI DI INDONESIA Ema Qurnianingsih, Kadek Rachmawati, Reviany V.Nidom, Rahmalia D.Suindari, Suhartati, Chairul A Nidom	56-62
9. EFEK EKSTRAK DAUN TORBANGUN (<i>Coleus amboinicus</i> Lour) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA HATI TIKUS DIABETES Trini Suryowati, Rimbawan, Rizal Damanik, Maria Bintang, Ekowati Handharyani	63-68
10. POLA MUTASI VIRUS FLU BURUNG H5N1 PADA BERBAGAI INANG BERDASARKAN KAJIAN MOLEKULAR FRAGMEN HEMAGGLUTININ Kadek Rachmawati, Ema Qurnianingsih, Muhamad Y.Alamudi, Setyarina Indrasari, Soetjipto, Chairul A. Nidom	69-81
11. IN SILICO DOCKING MOLEKULAR ANTITUBERKULOSIS TERHADAP TARGET ENZIM ALANIN RACEMASE DAN TIMIDILAT SINTASE MYCOBACTERIUM TUBERKULOSIS H37Rv St Khaerunnisa, Suhartati, Ira Humairah, Reza Arta Bagaskoro Nugroho	82-91

12. KLONING GEN PENYANDI Ag85B <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Sri Aprilianti Idris, Wayan T Artama, Ning Rintiswati	92-99
13. PEMBERIAN EKSTRAK BIJI KAKAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) TERHADAP PROFIL LIPID dan KADAR NOx TIKUS PUTIH JANTAN (<i>Rattus norvegicus</i>) DISLIPIDEMIA Dewi Wiryanthini IA, Sutadarma IWG, Yuliana	100-105
14. EFEK KUERSETIN TERHADAP EKSPRESI GEN ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE (eNos) DI SEL OTOT JANTUNG DAN SEL ENDOTHELIAL AORTA TIKUS DIABETES MELITUS TIPE 2 Tien, Ahmad Hamim Sadewa, Arta Farmawati	106-115
15. GENOTIPE VIRUS HEPATITIS B (VHB) PADA PENDERITA HEMODIALISIS (HD) DENGAN HBSAG NEGATIF DI RSUD DR. SOETOMO, SURABAYA, INDONESIA Retno Handajani, Lina Lukitasari, Mochamad Amin, Mochammad Thaha, Soetjipto	116-124
16. ANALISIS POLIMORFISME -2578*C/A GENA VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR-A (VEGF-A) DENGAN TEKNIK ARMS-PCR PADA INDIVIDU DENGAN DAN TANPA ULKUS DIABETIKA Ika Rahayu, Hemi Sinorita, Kris Herawan Timotius, Ahmad Hamim Sadewa	125-130
17. PENGARUH EKSPRESI LIPOPROTEIN LIPASE TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA SERUM PADA TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2 YANG TERPAPAR KUERSETIN JANGKA PENDEK Sylvia Rianissa Putri, Arta Farmawati, Tasmini	131-139
18. EFEK EKSTRAK KULIT MANGGIS PADA MDA DARAH TIKUS WISTAR TERPAPAR FLUPHENAZIN DEKANOAT Innawati Jusup, Irena Aryani Puspwardojo	140-144
19. VIRUS NEWCASTLE DISEASE PADA AYAM KAMPUNG DENGAN METODE RT-PCR DAN REA. Wahyu Haryanto dan Aris Haryanto	145-154
20. PEMANFAATAN PROBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT <i>Streptococcus thermophilus</i> DARI LIMBAH KOTORAN IKAN TERHADAP PERFORMAN PERTUMBUHAN DAN KADAR KOLESTEROL DAGING AYAM BROILER Strain <i>Lohmann</i> Astuti, Zaenal Bachruddin, Supadmo, Eni Harmayani	155-165
21. PENENTUAN PROTEIN EFFICIENCY RATIO (PER) TEPUNG KORO PEDANG PUTIH (<i>Canavalia ensiformis</i> L.) PADA TIKUS SPRAGUE-DAWLEY JANTAN LEPAS SAPIH Agnes-Murdiati, Citra Bonita Permatasari, dan Sri Anggrahini	166-175

PENGARUH HIPERGLIKEMIA TERHADAP *HIGH SENSITIVE C REACTIVE PROTEIN* (Hs-CRP) PADA PENDERITA DIABETES MELITUS TIPE 2

Etty Yerizel¹; Putra Hendra²; Zulkarnain Edward²; Hafni Bachtiar³

¹Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang

²Fakultas Kedokteran Universitas Batam

³Fakultas Kedokteran Universitas Andalas

E-mail: etty_yerizel@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar Belakang: Hiperglikemia pada DM menyebabkan stres oksidatif dan peningkatan ROS (*reactive oxygen species*). Hiperglikemia intrasel menyebabkan peningkatan sintesis diasilgliserol yang menyebabkan ekspresi PKC dalam sel juga meningkat. Peningkatan aktivasi PKC mengakibatkan peningkatan NF- κ B (*Nuclear factor κ B*) yang merupakan *Proinflammatory gene expresion* sehingga akan meningkatkan factor-faktor inflamasi antara lain IL-6 dan TNF- α yang pada akhirnya memacu hepar memproduksi CRP.

Metode: Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *Cross Sectional* dengan *study comparative*. Sampel penelitian adalah 35 penderita DM tipe 2 yang mempunyai kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl atau kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl, umur 30 -60 tahun yang menjalani rawat jalan dan atau rawat inap di bagian penyakit dalam rumah sakit di kota Batam. Sebagai kontrol adalah 35 orang sehat yang tidak menderita DM. Pemeriksaan kadar Hs-CRP dengan metode ELISA.

Hasil: Rata-rata kadar Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 sebesar $8,43 \pm 0,37$ ng/ml sedangkan non DM rata-rata $0,84 \pm 0,20$ ng/ml. Terdapat perbedaan yang signifikan rata-rata kadar Hs-CRP penderita DM tipe 2 dan non DM ($p < 0,05$). Terdapat korelasi antara kadar glukosa darah puasa dengan kadar Hs-CRP dengan $p < 0,05$.

Kesimpulan: Kadar Hs-CRP penderita DM tipe 2 lebih tinggi dari pada yang terdapat pada orang sehat dan berkorelasi dengan kadar glukosa.

Kata kunci: DM tipe 2, hyperglycemia, ROS, Hs-CRP

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) telah menjadi masalah kesehatan yang dihadapi oleh seluruh Negara di dunia, tidak satu Negara pun kebal terhadap DM. Menurut International Diabetes Federation (IDF), saat ini angka pengidap diabetes di seluruh dunia mencapai angka 285 juta jiwa¹. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada

tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Senada dengan WHO, IDF pada tahun 2009 memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM dari 7,0 juta pada tahun 2009 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030 atau meningkat dua sampai 3 kali pada tahun 2030.² DM terdiri dari dua tipe yaitu tipe 1 yang disebabkan kelainan genetik dan tipe 2. Secara umum, hampir 80 % prevalensi diabetes melitus adalah DM tipe 2.

Keadaan hiperglikemia kronis dapat menyebabkan kelainan hampir seluruh jaringan tubuh, terutama pada jaringan yang dipengaruhi insulin.³ Proses kerusakan pada umumnya berawal dari adanya kelainan pembuluh darah mikro dan makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler meliputi nefropati, retinopati dan neuropati, sedangkan makrovaskular meliputi penyakit jantung iskemik, stroke dan penyakit vaskular perifer⁴. Hiperglikemia mengakibatkan kerusakan pada mitokondrial yang selanjutnya akan memicu timbulnya berbagai jenis *reactive oxygen species* (ROS). Contoh dari radikal bebas seperti Superoxide (O₂⁻), Hydroxyl (OH), Peroxyl (RO₂), Nitric oxide (NO) dan Nitrogen dioxide (NO₂⁻). Peningkatan ROS dapat mengakibatkan kerusakan makromolekul seperti lipid berupa lipid peroksidasi, Protein teroksidasi dan juga kerusakan DNA merupakan kunci terhadap patogenesis terjadinya kerusakan berbagai jaringan tubuh yang merupakan komplikasi dari DM.^{4,5,8} Peningkatan radikal bebas dapat menimbulkan stress oksidatif yaitu suatu keadaan dimana antioksidan endogen tubuh tidak dapat meredam radikal bebas.^{6,7,12}

Mekanisme kerusakan jaringan tubuh pada DM adalah melalui *polyol pathway*, pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs), peningkatan aktivasi protein kinase C (PKC) melalui peningkatan *diacyl glycerol* (DAG), dan *hexosamine pathway*.³ Hiperglikemia intrasel menyebabkan peningkatan sintesis DAG yang menyebabkan ekspresi PKC dalam sel juga meningkat yang pada akhirnya akan mengubah berbagai macam ekspresi gen yang secara keseluruhan merusak pembuluh darah. Peningkatan aktivikasi PKC mengakibatkan peningkatan *nuclear factor kB* (NF-kB) yang merupakan proinflammatory gene expresion sehingga akan meningkatkan faktor2 inflamasi antara lain interleukin 6 (IL-

6) dan TNF alpha yang akan memacu hepar memproduksi C-reactive protein (CRP).^{3,11,13}

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kelainan vaskuler terjadi karena adanya *low grade chronic inflammation* pada endotelium. Keadaan tersebut diperkuat dengan peningkatan beberapa marker inflamasi khronis seperti IL-6 dan high sensitive CRP (Hs-CRP). Penelitian menunjukkan bahwa Hs-CRP merupakan marker yang cukup sensitif untuk mendeteksi adanya inflamasi subklinis tersebut.^{9,10,11}

METODE

Desain Penelitian adalah observasional analitik cross sectional dengan populasi penderita DM yang berobat di beberapa Rumah Sakit Batam yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak masuk dalam kriteria eksklusi. Korelasi diukur dengan menggunakan uji korelasi Pearson atau Spearman (sesuai normalitas data). Penelitian ini dilaksanakan di Bagian Penyakit Dalam di beberapa Rumah Sakit di Batam. Pemeriksaan kadar Hs-CRP di laboratorium Biomedik Fakultas kedokteran Universitas Andalas Padang.

Populasi penelitian ini adalah seluruh penderita DM tipe 2 yang mempunyai kadar glukosa darah puasa > 126 mg/dl. yang menjalani rawat jalan dan rawat inap di bagian penyakit dalam di beberapa rumah sakit di Batam. *Sampling* dilakukan secara random pada penderita DM Tipe 2 yang mempunyai kriteria eksklusi dan inklusi. Sebagai kontrol adalah orang sehat yang tidak menderita DM.

Besar sampel

Jumlah sampel diambil dengan menggunakan rumus :

$$n_1 = n_2 = Z^2 \cdot P \cdot Q / d^2 \text{ (Kutipan Notoatmodjo S,2002)}$$

$$n_1 = n_2 = 35$$

Jumlah sampel minimal pada setiap kelompok adalah 35 orang. Sampel darah vena sebanyak 10 ml.

Kriteria Inklusi Subyek :

- Penderita DM Tipe 2
- Bersedia menandatangani *informed consent*
- Umur berkisar antara 30 s/d 60 tahun

Kriteria Eksklusi Subyek:

Penderita penyakit kronis seperti penyakit hati, ginjal, hipertensi, rheumatoid arthritis, penyakit paru kronis, gastroenteritis.

Variabel Independen: kadar Hs-CRP dan kadar glukosa darah.

HASIL

Karakteristik sampel subjek penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil tersebut terlihat bahwa umur rata rata penderita

DM tipe 2 adalah $45,31 \pm 8,53$ dan non DM adalah $30,65 \pm 6,14$, rata rata kadar glukosa darah adalah $147,31 \pm 14,57$ mg/dl pada DM tipe 2 dan $74,02 \pm 7,84$ mg/dl pada non DM. Kadar HbA1c $8,87 \pm 1,48$ % pada DM tipe 2, dan IMT pada DM tipe 2 adalah $23,79 \pm 1,63$ dan pada non DM $20,81 \pm 1,98$. Berdasarkan jenis kelamin (Tabel 2) penderita DM tipe 2 laki laki sebanyak 20(57,1%) dan perempuan 15(42,9%), kelompok non DM jumlah laki laki 6(17,1%) dan perempuan 29(82,9%), masing masing total 35.

Kadar rata rata Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 (Tabel 3) adalah $8,43 \pm 0,37$ ng/ml dan pada non DM $0,84 \pm 0,20$ ng/ml. Kadar rata rata Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 lebih tinggi dibandingkan dengan non DM. Pada Gambar 1 terlihat bahwa terdapat hubungan kadar glukosa darah puasa dengan kadar Hs-CRP. Semakin tinggi kadar glukosa darah, maka semakin tinggi kadar Hs-CRP.

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

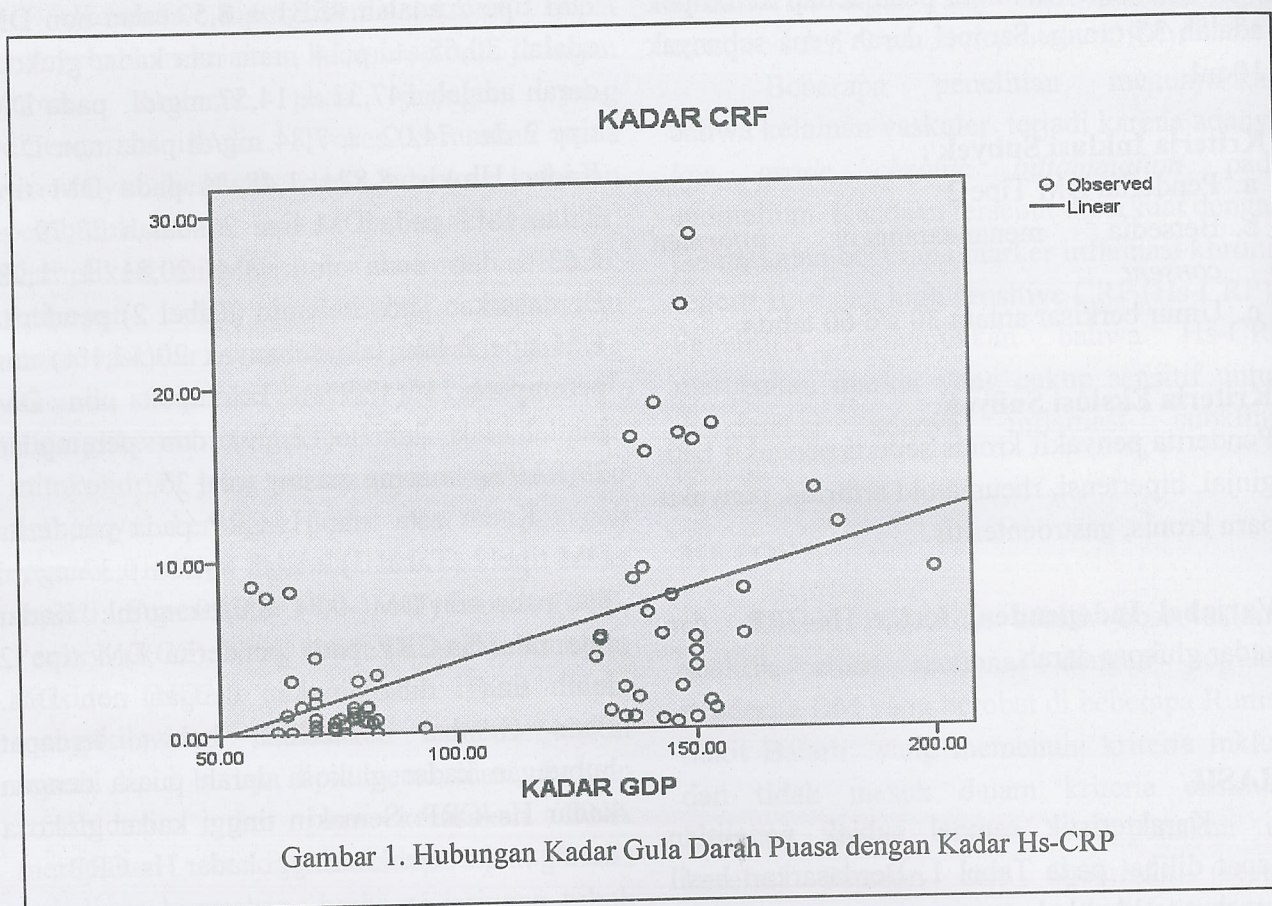
Karakteristik Subjek Penelitian	Rata- rata \pm SD		P*
	DM tipe 2	Non DM	
Umur (Tahun)	$45,31 \pm 8,53$	$30,65 \pm 6,14$	$< 0,05$
Glukosa darah puasa (mg/dl)	$147,31 \pm 14,57$	$74,02 \pm 7,84$	$< 0,05$
HbA1c (%)	$8,87 \pm 1,48$	Tidak diperiksa	
IMT	$23,79 \pm 1,63$	$20,81 \pm 1,98$	$< 0,05$

Tabel 2. Karakteristik Subjek Penelitian Berdasarkan Jenis Kelamin

Jenis kelamin	DM tipe 2	Non DM	P*
Laki laki	20 (57%)	6(17,1%)	0,001
Perempuan	15 (42,9%)	29(82,9%)	0,001
Total	35 (100%)	35 (100%)	0,001

Tabel 3. Kadar Rata- rata Hs-CRP pada Kelompok DM Tipe 2 dan Non DM

Kelompok	n	Kadar Hs-CRP (ng/ml)	P*
		Rata- rata \pm SD	
DM tipe 2	35	$8,43 \pm 0,37$	$< 0,005$
Non DM	35	$0,84 \pm 0,20$	$< 0,005$



PEMBAHASAN

Pada hasil penelitian ini kadar rata rata Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 lebih tinggi dibandingkan dengan non DM. Peningkatan kadar Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 ini sekitar 10 kali lipat dibandingkan dengan non DM. Terjadinya peningkatan kadar rata rata Hs-CRP pada penderita DM tipe 2 disebabkan oleh respon inflamasi yang timbul akibat komplikasi dari DM. Hal ini diawali oleh keadaan hiperglikemia intrasel menyebabkan kerusakan mitokondria pada DM tipe 2 yang mengakibatkan terjadinya peningkatan ROS dan stress oksidatif sehingga radikal bebas meningkat dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas ini akan menyebabkan kerusakan makro dan mikrovaskuler. Mekanisme kerusakan jaringan tubuh pada DM adalah melalui *polyol pathway*, pembentukan AGEs, peningkatan aktivasi PKC, melalui peningkatan DAG, dan

*hexosamine pathway*³. Hiperglikemia intrasel menyebabkan peningkatan sintesis DAG yang menyebabkan ekspresi PKC dalam sel juga meningkat, hal ini pada akhirnya akan mengubah berbagai macam ekspresi gen yang secara keseluruhan merusak pembuluh darah. Peningkatan aktivasi PKC mengakibatkan peningkatan NF- κ B yang merupakan *Proinflammatory gene expresion* sehingga akan meningkatkan faktor-faktor inflamasi antara lain IL-6 dan TNF alpha yang akan memacu hepar memproduksi CRP.^{3,8,11}

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kelainan vaskuler terjadi karena adanya *low grade chronic inflammation* pada endotelium. Keadaan tersebut diperkuat dengan peningkatan beberapa marker inflamasi khronis seperti IL-6 dan Hs-CRP. Penelitian menunjukkan bahwa Hs-CRP merupakan marker yang cukup sensitif untuk mendeteksi adanya inflamasi subklinis tersebut^{9,10,11}. Pada

non DM sebagai kontrol mekanisme kerusakan seperti yang dijelaskan diatas tidak terjadi sehingga kadar rata rata Hs-CRP lebih rendah dibandingkan dengan penderita DM tipe 2.

Berdasarkan gambar 1 terlihat bahwa semakin meningkat kadar glukosa darah, maka terjadi pula peningkatan kadar Hs-CRP. Hubungan ini memperjelas bahwa keadaan hiperglikemia akan menimbulkan kerusakan seluruh jaringan tubuh dan mempengaruhi respon inflamasi kronis seperti Hs-CRP.

SIMPULAN

Hiperglikemia pada penderita DM Tipe 2 meningkatkan kadar Hs-CRP, yang berbeda secara signifikan dengan yang terdapat pada non DM. Glukosa darah puasa berkorelasi dengan kadar Hs-CRP pada penderita DM Tipe 2.

DAFTAR PUSTAKA

1. International Diabetes Federation. Global Guideline for Type 2 Diabetes. Belgium: International Diabetes Federation; 2012.
2. Perkeni. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe II di Indonesia. 2011.
3. Brownlee M. The Pathology of diabetic complication, A unifying mechanism. Diabetes. 2005;54(6):1615-1625
4. Jakus V. The Role of Free Radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetica vascular disease. Bratisl Lek Listy. 2000; 101(10):541-551
5. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of type 2 Diabetes. Endocrine Reviews. 2002;23(5):599-622
6. Mohora M, Greabu M, Muscurel C, Duta C, Totan A. The Sources and the targets of oxidative stress in the etiology of diabetic complications, Rom J Biophys. 2007;17(2):63-84
7. Giacco F and Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. Circ Res. 2010;107(9):1058-1070
8. Kashigawa A. Complications of Diabetes Mellitus and Oxidative Stress. Japan Med Assoc J. 2001;44(12):521-528
9. Duh, Elia and Aiello LP. Vascular Endothelial Growth Factor and Diabetes, the Agonist versus Antagonist Paradox. Diabetes. 1999;48(10):1899-1906
10. Ferrara N, and Davis-Smyth T. The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor. Endocr Rev. 1997;18(1):4-25
11. Choudhary N, Ahlawat RS. Interleukin-6 and C-Reactive Protein in Pathogenesis of Diabetic Nephropathy New Evidence Linking Inflammation, Glycemic Control, and microalbuminuria. Iran J Kidney Dis. 2008;2(2):72-79
12. Piconi L, and Ceriello A. Oxidative stress, diabetes and its complications. Report. USA: Warwick Medical School;2007.